

Title	Competitive binding of musclin to natriuretic peptide receptor 3 with atrial natriuretic peptide
Author(s)	喜多, 俊文
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58929
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照 ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【122】

氏 名	喜 多 俊 文 ^{き た しゅん ぶん}
博士の専攻分野の名称	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	第 2 4 9 6 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 23 年 10 月 20 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Competitive binding of musclin to natriuretic peptide receptor 3 with atrial natriuretic peptide (マスキリンのナトリウム利尿ペプチド 3 型受容体に対する心房生ナ トリウム利尿ペプチドとの競合的結合)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 下村伊一郎 (副査) 教 授 小室 一成 教 授 森下 竜一

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

新規骨格筋由来分泌因子 Musclin の受容体同定及び心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) との競合的結合とその病態生理的意義の解明。

〔 方法ならびに成績 〕

Musclinはナトリウム利尿ペプチド (NP) と相同性が高い分子内領域を持つ。この点に着眼し、NP受容体 (NPR1, NPR2, NPR3) を過剰発現させた細胞への標識全長Musclinの結合を解析し、MusclinはNPR3特異的に結合することを見いだした。標識した心房性NP (ANP) はいずれのNP受容体にも結合するが、NPR3特異的合成リガンドであるL-ANPやC-ANPと同様に、MusclinはANPとNPR1との結合にはわずかに影響するものの、ANPとNPR2の結合は全く阻害しなかった。

次にMusclinとNPR3との親和性を解析するために、レトロウイルスを用いてNPR3を安定的に発現する細胞とビオチン標識したMusclinとの結合を解析し、MusclinはNPR3と細胞表面で結合し、ANPより高い親和性を持って結合することを明らかにした。

Musclin分子中には2つのNP相同領域が存在する。これら2つの相同領域のNPR3との結合への関与とその意義を解析するために、NPR3の細胞外領域とIgGFc領域の融合蛋白、及びN末端ビオチン標識Musclinを作出し、各種Musclin部分タンパク・ペプチドとの結合を精査した。IgGFc融合NPR3は標識Musclinと結合し、非標識MusclinやANPによって阻害されたことから、MusclinがNPR3に特異的に結合することを確認した。Musclin分子はほぼ中央に存在し、プロセッシング位置と想定される⁷⁶KKKR⁷⁹よりC末側ブラグメント (80-130) は全長分子と同様の結合競合性を示したことから、C末側がNPR3との結合に重要であることが示された。

このC末側には2つのNP相同領域1 (⁸⁸LDRL⁹¹) 及び相同領域2 (¹¹⁷MDRI¹²⁰) が存在する。これらにオーバーラップする2つの合成ペプチド (80-112、及び105-130) を比較すると、ペプチド105-130がほとんど結合競合性を示さないのに対して、ペプチド80-112は有意かつ濃度依存的に標識Musclinの結合を阻害し、相同領域1がより重要であることが示唆された。また、真核細胞に発現させた全長Musclin (N末端Flag融合全長Musclin) は、大腸菌に発現させたものより高親和性であった。

2つの相同領域に各々アミノ酸変異を導入したMusclinを作成した。相同領域1に変異を導入したMusclinは、相同領域2に変異を導入したものよりも10倍以上大きく結合親和性が失われた。また両方の相同領域に変異を導入するとNPR3への結合が完全に失われた。これらの変異導入による活性減弱は、C末側ブラグメント (80-130) をベースにした同様の検討においても再現され、NPR3への結合には相同領域1がより重要であり、2つの相同領域は協調して機能することによってMusclinの高い親和性結合を形成していることが示唆された。

NPR3はNPのクリアランス受容体であることから、Musclinの血漿中ANP濃度に対する影響を、正常C57BL/6Jマウスを用いて検討した。NPR3特異的合成リガンドC-ANPを用いて報告されているように、Musclinの持続注入はC-ANPと同程度まで血漿中ANP濃度を増加した。このことから生理的にもMusclinはNPR3に対して、ANPなどのNPと競合的に結合し得ることを明らかにした。

〔 総 括 〕

本研究において、新規骨格筋由来分泌因子MusclinはNPクリアランス受容体であるNPR3と高親和性に結合し、その結合にはMusclin分子に存在する2つのNP相同領域のN末側領域がより重要であり、また両方の領域が協調的に機能することによって高親和性結合能を発揮していることを明らかにした。さらにMusclinとNPとの競合は生体中でも発揮され得ることを示した。NPR3の発現は絶食によって極度に低下するが、このことが低カロリー状態や絶食における利尿促進や低血圧と関連する可能性がある。ANPはまた嫌氣的解糖から好氣的解糖へのスイッチに働くことが知られる。さらに最近NPR3は各種肥満・2型糖尿病モデルの脂肪組織で発現高進し、また脳性NP (BNP) のTgマウスはエネルギー消費が高進することも報告されており、Musclinがクリアランス受容体NPR3に対してこれらNPと競合することによって、その全身性あるいは局所性のバイオアベイラビリティを高めることで、エネルギー代謝を含めた代謝制御に働くことが想定された。

論文審査の結果の要旨

新規骨格筋由来分泌因子Musclinはナトリウム利尿ペプチドクリアランス受容体であるNPR3と高親和性に結合し、その結合にはMusclin分子に存在する2つのNP相同領域のN末側領域がより重要であり、また両方の領域が協調的に機能することによって高親和性結合能を発揮していることを明らかにした。さらにMusclinとナトリウム利尿ペプチドとの競合は生体中でも発揮され得ることを示した。NPR3は各種肥満・2型糖尿病モデルの脂肪組織で発現高進し、また脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP) のTgマウスはエネルギー消費が高進することも報告されており、Musclinがクリアランス受容体NPR3に対してこれらナトリウム利尿ペプチドと競合することによって、その全身性あるいは局所性のバイオアベイラビリティを高めることで、エネルギー代謝を含めた代謝制御に働くことが想定された。重要な分子を同定した以上の研究は、医学の発展に寄与するものであり、博士 (医学) の学位授与に値する。